

발효흑마늘 추출물이 흰쥐의 지질대사 및 간기능 개선에 미치는 영향

정수연 · 한경훈* · 배송환** · 한성희*** · †이용권****

고려대학교 의과대학 인간행동과 유전자연구소 연구원, *서울의료원 의학연구소 연구원, **한경대학교 식품생명공학과 교수, ***고려대학교 의과대학 인간행동과 유전자연구소 교수, ****유한대학교 호텔관광 외식조리학과 교수

Effects of the Fermented Black Garlic Extract on Lipid Metabolism and Hepatoprotection in Mice

Soo Yeon Chung, Kyung-Hoon Han*, Song-Hwan Bae**, Sung Hee Han*** and †Yong Kwon Lee****

Researcher, Institute of Human Behavior & Genetic, College of Medicine, Korea University, Seoul 02841, Korea

*Researcher, Research Institute, Seoul Medical Center, Seoul 02053, Korea

**Professor, Dept. of Food Science and Biotechnology, College of Engineering, Global K-Food Research Center, Hankyong National University, Anseong 17579, Korea

***Professor, Institute of Human Behavior & Genetic, College of Medicine, Korea University, Seoul 02841, Korea

****Professor, Dept. of Culinary Art & Food Service Management, Yuhan University, Bucheon 14780, Korea

Abstract

This study was conducted to evaluate the functionality of fermented black garlic extracts under various conditions. Black garlic powder was prepared by aging for 0~72 hours at 80°C depending on relative humidity (RH). It showed the highest antioxidant effects among the samples; the total antioxidant activity of black garlic powders at RH 75%, 84%, and 90% for 72 hours was increased 31.9 times, 28.2 times, and 22.6 times compared with that of the fresh garlic powder, respectively. Also, the alliin content was gradually decreased. S-allyl-L-cysteine and S-ethyl-cysteine levels were increased; the highest values were 495.9 µg/g and 1,769.7 µg/g after aging for 72 hours at RH 75%. Aspartate transaminase (AST) and alanine transaminase (ALT) levels were increased following high fat diet feeding, but the rise was obviously reduced by administration of black garlic extract. The total cholesterol, LDL/VLDL-cholesterol, and triglyceride contents in serum were significantly lower in methionine and choline deficient (MCD) diet treatment groups than in the positive control group. The concentration was increased following the intake of black garlic and fermented black garlic extracts. Therefore, black garlic extracts could be an ideal material as a dietary supplement in healthy functional foods to improve the effects on fatty liver.

Key words: fermented black garlic extract, anti-obesity, hepatoprotection, antioxidant activity, S-allyl-L-cysteine

서 론

식생활의 서구화로 동물성 식품의 과다섭취에 의한 지방 섭취량이 증가하면서 고지혈증을 동반한 비만 및 당뇨 등의 유병률이 증가하고 있다. 비만은 대사성 질환의 대표적인 원인으로 여러 합병증을 유발하기 때문에 사회문제로 간주되기도 한다. 한편, 비만인 성인의 60~80%에서 나타나는 비알코올성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease)에 대한

유병률은 증가하고 있는 것으로 보고되었다(Jeong 등 2013). 서양의 경우, 일반 인구에서의 유병률은 20~30%로 보고된 바 있으며(Anstee 등 2013), 국내에서도 비만과 관련된 대사 질환이 빠르게 증가하고 있고, 건강검진 수검자를 대상으로 한 연구에서 비알코올성 지방간 질환의 유병률은 16~33%로 나타났다(Park 등 2006). 비알코올성 지방간은 간 손상이 동반될 수 있는 간지방증 상태를 말하며, 간 조직 내 지방축적이 관찰되고 음주, C형 간염, 약물 등의 특정 원인이 배제되

† Corresponding author: Yong Kwon Lee, Professor, Dept. of Culinary Art & Food Service Management, Yuhan University, Bucheon 14780, Korea. Tel: +82-2-2610-0801, Fax: +82-2-2610-0430, E-mail: yklee@yuhan.ac.kr

어 발병한 경우를 말한다(Chalasanani 등 2012; Gwak 등 2019). 비알코올성 지방간의 발병은 비만, 당뇨, 고지혈증 및 고혈압 등과 밀접한 관련이 깊고, 간 세포 내에 지방이 축적되면서 지방대사 및 합성의 불균형을 초래하므로(Argo & Caldwell 2009), 체내 지질대사 및 간 기능 개선을 위한 생리활성을 갖는 식품소재 개발 대한 지속적인 연구가 필요한 실정이다.

마늘(*Allium sativum* L.)은 우리나라 식생활에서 필수적인 향신료로서 함유화합물 및 allicin에 의해 항산화능을 나타낸다고 알려져 있으며(Horie 등 1992), 비만 및 심혈관계 질환의 예방 및 치료에도 효능이 있는 것으로 보고되고 있다(Chun & Paik 1997; Shang 등 2019). 열처리에 의한 가공 흑마늘의 생산과 흑마늘의 생리활성변화 및 생마늘의 자극취 감소로 인한 섭취량 증대에 관한 연구도 수행된 바 있으며(Lee 등 2009; Shin 등 2010), 특히, 흑마늘의 항산화 활성은 고온에서 장시간 노출되어 마이알 반응에 의해 생성된 갈색물질에 기인되는 것으로 알려져 있다(Kim 등 2005). 흑마늘은 생마늘에 비해 생리활성이 우수하며, 매운 맛과 자극취가 감소되어 급속도로 산업화되어 섭취량을 증가시켰으나, 장시간 가공에 따른 고비용으로 인하여 소비계층이 한정되어 있다고 볼 수 있다(Lee 등 2010; Lee 등 2014).

한편, 최근 유산균, 효모, 곰팡이 등 유용미생물을 이용한 발효기술의 진보로 생리활성 효능이 증진되어 발효산물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 탄수화물과 단백질 등을 저분자화 할 수 있는 미생물들은 국내 뿐만 아니라, 여러 아시아 국가에서도 양조, 발효식품 및 기능성 식품 제조에 광범위하게 이용되고 있다. 그 중 홍국균(*Monascus pilosus*)을 이용한 발효산물은 여러 나라에서 건강식품으로 사용되고 있다. 홍국색소는 식품첨가물로 이용되며, monacolin K, mevinolin, lovastatin, γ -aminobutyric acid(GABA) 및 acetylcholine 과 같은 생리활성물질은 콜레스테롤 생합성 효소(HMG-CoA reductase) 활성 억제, 혈압상승 억제, 혈전 용해 작용, 지질대사 작용 및 항산화 활성과 같은 유효성 검증에 관한 연구가 보고되었다(Tsukahara 등 2009; Ahn 등 2014). 이에 식품의약품안전처에서 홍국제품을 건강기능식품의 신규품목으로 등록함으로써 이를 이용하여 새로운 건강기능식품 개발에 활용하려는 연구가 증가하고 있다. 따라서, 본 연구에서는 숙성시간과 상대습도를 조절하여 흑마늘 분말을 제조하였으며, 숙성조건에 따른 흑마늘 분말 추출물의 *in vitro* 항산화 활성을 측정하였다. 최적 숙성조건이 확립된 흑마늘 분말의 추출물을 홍국균(*Monascus pilosus*)과 유산균(*Lactobacillus brevis*)으로 발효시키고, 미생물 발효 흑마늘 추출물의 항산화 활성 및 유효물질의 함량변화를 분석하였다. 또한, 각 추출물을 고지방 식이로 비만이 유도된 흰쥐와 비알코올성 지방간이 유도된 흰쥐의 기본 식이에

첨가하여 체내 지질대사 및 간 기능 개선에 미치는 영향을 분석하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 추출물 제조

본 실험에서 사용한 마늘(*Allium sativum* L.)은 경상북도 의성군에서 2013 년도에 구입한 것으로, 불순물과 뿌리를 제거한 생마늘을 슬라이스한 후, 동결 건조하여 분말화한 시료를 사용하였다. 흑마늘 분말은 80°C 항온기 안의 과포화된 밀폐용기에서 숙성시키며 제조하였다. 마늘 추출물(raw garlic extract; RG)과 흑마늘 추출물(black garlic extract; BG)은 시료 분말에 5 배의 증류수를 가하여 블렌딩하고, 70°C에서 30 분간 교반기에서 열수추출하였다. 열수추출 후, 냉각시키고 원심분리하여(7,800×g, 15 min) 상징액을 분리하였다. 분리한 상징액은 여과(Whatman No.4)하여 시료로 사용하였고, 일부는 동결건조하여 분말화하였다. 흑마늘은 다음과 같이 제조하였다. 우선, 식용이 가능한 Sodium chloride(NaCl), Potassium bromide(KBr) 및 Barium chloride dehydrate($BaCl_2 \cdot 2H_2O$)의 세 가지 염으로 과포화염용액을 제조하고, 과포화염용액 350 mL를 일정한 크기(155×155×87 mm)의 밀폐용기에 넣어, 80°C 항온기에서 상대습도 75%, 84% 및 90%를 일정하게 유지하도록 하였다. 최적숙성공정 조건을 확립하기 위해 지름 1.5 cm의 동일한 vial에 마늘분말시료 0.7 g을 넣고, 상대습도가 조절된 밀폐용기에 보관하며, 0, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 시간 별로 숙성시키면서 평형수분함량에 도달한 시간을 측정하였다. 제조한 흑마늘에서 추출한 흑마늘 추출액은 유산균(*Lactobacillus brevis* KCTC 11520BP)과 홍국균(*Monascus pilosus* KCCM 60029)을 접종하여 발효시킨 후, 제균하고 여과하여 유산균 발효 흑마늘 추출물(*Lactobacillus* fermented black garlic extract; LFBG)과 홍국균 발효 흑마늘 추출물(*Monascus* fermented black garlic extract; MFBG)로 사용하였고, 동결건조하여 분말화하여 보관하였다.

2. 총 폴리페놀 화합물 함량 측정

총 폴리페놀 화합물 함량은 Folin-Denis 법(AOAC 1955)을 응용하여 측정하였다. 즉, 각 추출물 시료는 증류수를 이용해 1 mg/mL 농도로 조정된 시료 0.5 mL에 Folin-Ciocalteu's phenol 시약 0.25 mL 및 20% sodium carbonate 용액 1.25 mL를 차례로 가한 다음 실온에서 40 분간 정치한 후 UV/VIS spectrophotometer를 이용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때, 총 폴리페놀 화합물 함량($\mu\text{g gallic acid/mg sample}$)은 gallic acid(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 산출하였다.

3. 환원력(Ferric reducing antioxidant power; FRAP) 측정

환원력 측정은 FRAP 법(Benzie & Strain 1996)을 이용하여 수행하였다. FRAP 시약은 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 40 mM HCl에 녹인 10 mM TPTZ(2,4,6-tripyridyl-s-triazine)와 20 mM FeCl₃ · 6H₂O를 각각 10:1:1(v:v:v)의 비율로 실험 직전에 만들어 사용하였다. 각 시료 추출액 10 µL에 FRAP 시약 300 µL를 혼합하여 실온, 암소에서 30 분간 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer를 이용하여 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료 추출물의 환원력은 FeSO₄를 표준물질로 하여 얻은 검량선으로 계산하여 나타냈다.

4. DPPH 라디칼 소거능 측정

각 시료의 항산화능은 Zhang 등(2011)의 방법에 따라, 각 추출물의 DPPH(2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼에 대한 전자공여능(Electron donating ability)을 측정하여 라디칼 소거능을 계산하였다. 일정 농도의 시료(0.5 mL, 0.1 mg/mL)에 0.1 mM DPPH 용액 1.0 mL를 가하여 혼합한 후, 실온의 암소에서 40 분간 반응시켜 UV/VIS spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 대조군에 대한 흡광도 차이로 계산하였으며, 대조군으로는 시료와 같은 농도의 아스코르브산(Ascorbic acid)를 사용하였다.

$$\text{Scavenging activity (\%)} = \{1 - [(O.D. \text{ Sample} - O.D. \text{ control}) / O.D. \text{ blank}]\} \times 100$$

5. 유효물질의 정량분석

각 시료의 추출물을 1% 용액으로 제조하고, Wan 등(2007)의 방법에 따라 HPLC (Agilent series 1200)를 이용하였으며, column은 5 µm particles, 4.6×150 mm Eclipse XDB-C18 (Agilent)을 사용하였다. UV 210 nm(wavelength), injection volume 5 mL로 적용하였고, 이동상의 유속은 1 mL/min, 조성은 5에서 100 vol.%로 일직선으로 증가되도록 하여 3 분 동안 현 상태를 유지하고 최종적으로 처음상태로 돌아가 2 분을 유지시켰다. 모든 분석 실험은 25±0.5°C에서 실행하였다. 실험에 사용한 Methanol과 distilled water는 HPLC grade를 사용하였고, 표준품으로 S-allyl-L-cysteine(SAC; SML 0337, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), S-ethylcysteine (SEC; S361615, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), S-methyl cysteine (SMC; M6626, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 및 Alliin (72805, Supelco Ltd., USA)을 사용하였으며, 0~1,000 ppm의 농도로 표준곡선을 작성하였다.

6. 실험 동물, 식이조성 및 사육조건

실험동물은 6주령의 C57BL/6J계 수컷 흰쥐를 (♂) 중앙실험

동물에서 구입하여, 온도 22±3°C, 습도 50±5%, 명암주기 12시간이 자동 설정된 동물 사육실에서 사육하였다. 7일간의 순화를 종료한 후 모든 개체들의 체중을 측정하고, 내림차순으로 정렬한 후 '크자 법'에 따라 배분하여 군 분리를 시행하고(KIRAMS/ANI/027에 따라 시행함), 각 실험군 당 5 마리씩 나누었다. 본 실험에서 시험동물들에게 45% 지방이 함유된 고지방 사료인 Diet Induced Obesity(DIO, Research Diet Inc., USA, #D12451)를 8주간 자유급식하여 비만 동물 모델을 확립하였고, L-methionine과 choline이 없는 MCD 사료인 Methionine & Choline Deficient Diet(Dyests Inc., USA, #518810)를 4주간 자유급식하여 비알코올성 지방간 동물 모델을 확립하였다. 마늘, 흑마늘, 유산균 및 홍국균 발효 흑마늘 분말은 100 mg/mL 농도로 용해하여 사용하여 각 시험그룹 분리일로부터 8주간 및 4주간 매일 1회 경구투여(1회 당 500 mg/kg, 투여역량 5 mL/kg)하였다. 실험군은 크게, 비만 시험군과 지방간 시험군으로 나누고, 각 시험군에서의 정상군(positive control; PC), 음성 대조군(negative control; NC), 시료 처리군 4개로 배분하여 총 12군으로 구성하였다. 본 연구에서 동물과 관련된 실험 프로토콜은 한국원자력의학원 동물실험윤리위원회에 의하여 승인되었다(KIRAMS-2013-15).

7. 동물실험, 시료 채취 및 분석시료 조제

동물실험은 각 그룹의 분리 후부터 시험 종료일까지 매주 3회씩 체중을 측정하였으며, 시험 종료 시 모든 군(음성대조군, 비만 시험군, 지방간 시험군)의 개체들을 마취하고, 개복하여 심장 채혈을 시행하였다. 채혈한 혈액샘플들은 원심분리하여 혈청을 분리한 후, 혈청분석용 kit를 이용하여 Total-cholesterol, LDL/VLDL-cholesterol 및 Triglyceride 함량과 Aspartate Transaminase(AST) 및 Alanine Transaminase(ALT) 수치를 분석하였다. 또한, 모든 군의 개체에서 심장, 간, 신장, 비장, 부고환 지방조직을 적출하여 무게를 측정하였다.

8. 통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치의 통계분석은 SPSS 프로그램(ver. 18)을 이용하여 일원 배치 분산 분석(one-way ANOVA)으로 검정하여 평균 값과 표준오차(mean±SE)로 표시하였으며, Duncan's multiple range test에 따라 p<0.05 수준에서 유의성을 평가하였다.

결과 및 고찰

1. 상대습도와 숙성시간에 따른 마늘 분말의 항산화능 변화

포화 염용액을 이용한 마늘분말의 최적 숙성공정을 확립하기 위하여 각 숙성 조건별에 따른 항산화능을 분석하였다.

총 폴리페놀 함량은 상대습도와 관계없이 숙성시간이 길어 질수록 점차 증가하는 경향을 나타냈다(Fig. 1(A)). 그러나 일정한 숙성시간(48 시간) 이후에는 총 폴리페놀 함량의 증가량이 크지 않았고, 숙성 초기로부터 숙성 시작 후 48 시간 동안에 매우 급증하는 결과를 나타내었다. 상대습도별로 살펴봤을 때, 90% 상대습도로 숙성하는 경우 가장 낮은 총 폴리페놀 함량을 나타냈고, 상대적으로 상대습도 75%와 84%는 90% 조건에 비하여 총 폴리페놀 함량이 비교적 높게 증가하는 결과를 보였다. 따라서, 75% 상대습도에서 시간에 따라 숙성시키는 것이 총 폴리페놀 함량의 증가치가 가장 효과적인 것으로 나타났으며, 이는 식품의 숙성과 갈변에 있어서의 최적 수분 조건이 75%인 것의 영향으로 사료된다. 또한, FRAP 시험에 의해 측정된 항산화력 결과 및 DPPH 라디칼 소거능 측정에서도 마늘 분말은 숙성시간에 따라 항산화력이 증가하는 결과를 나타냈고, 상대습도 75%인 조건에서 가장 높은 항산화력을 나타냈다(Fig. 1(B)와 Fig. 1(C)). 숙성 시작 24 시간 이후가 가장 높은 라디칼 소거능을 나타낸 것으로 보이나, 48 및 72 시간의 결과와 유의적인 차이가 없었다. 따라서, 마늘 분말을 24 시간 이상 숙성시키는 것이 라디칼 소거능을 최대로 볼 수 있는 시점이라고 본다. 이와 같은 결과들은 흑마늘 추출물의 갈변도와 색도의 변화와 일치하는 경향을 나타내었는데, 이는 숙성에 의하여 수반되는 여러 가지 과정 중에 생성되는 갈변물질의 생성 정도와 밀접한 상관성이 있는 것으로 판단된다. 또한, 열처리 공정에 의해 마늘 중 일부 화합물이 페놀성 물질로 전환되었거나, 열처리로 조직이 연화되어 시료 내부에 결합되어 있던 폴리페놀 화합물이 유리되어 저분자 폴리페놀 화합물의 농도가 증가했거나, 추출이 용이해진 결과로 사료된다(Kwon 등 2006; Kim 등 2010b; Park 등 2014). 마늘분말의 숙성시간과 상대습도에 따

른 유효성분의 정량분석 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 75%와 84% 상대습도에서 숙성시키는 동안 SAC 및 SEC와 같은 황 화합물이 증가된 것을 알 수 있다. 생마늘의 SEC 함량이 초기에 5.66 mg/g 인 것에 비하여 48 시간 숙성 후에 1,260 mg/g 으로 증가한 것으로 나타났다. 숙성을 통해 그 유용 성분의 함량이 증가한다는 것은 마늘 특유의 냄새나 자극성을 감소시키면서 그 고유의 기능성을 증가시킬 수 있어 효과적인 숙성 가공 공정법을 제공한다고 볼 수 있다. 시험결과들을 토대로 봤을 때, 상대습도 75% 또는 84%에서 48 시간 이상 마늘을 숙성시키는 것이 유용성분의 기능성을 얻을 수 있는 적합한 공정 조건임을 알 수 있다. 또한, 포화염용액을 이용하여 숙성하는 것은 숙성 시간을 매우 단축시키며, 그 비용 절감에도 매우 효과적임을 알 수 있다. 또한 여러 염들 중에서는 유효성이 좋고, 가격도 저렴하고 대중적인 75%(NaCl)를 이용하는 것이 바람직하다고 사료된다.

2. 미생물 발효에 따른 흑마늘의 항산화력 변화

흑마늘의 미생물에 의한 발효과정이 항산화성에 미치는 영향을 측정한 결과는 Table 1에 나타내었다. 숙성 또는 발효 공정이 각 항목별 항산화성을 증가시키는 것으로 나타났다. 숙성 후 발효공정을 더 진행한 경우, 그 증가폭은 더욱 상승한 것으로 나타났다. 특히, 총 폴리페놀 함량 변화를 살펴보면, 숙성된 흑마늘은 생마늘에 비하여 폴리페놀 함량이 2.5 배 증가한 결과를 나타냈다. 그러나, 숙성 후 발효공정을 더한 경우에는 생마늘에 비하여 약 4 배, 발효 전에 비하여 약 1.5 배 폴리페놀 함량이 증가한 것으로 나타났다. Lee 등 (2014)과 Chae 등(2011)은 간마늘로부터 흑마늘을 제조한 후 유산균으로 발효시킨 흑마늘의 총 페놀성 화합물 함량을 분석한 결과, 발효 전에 비해 발효 후 약 1.9 배 및 1.3 배 증가함

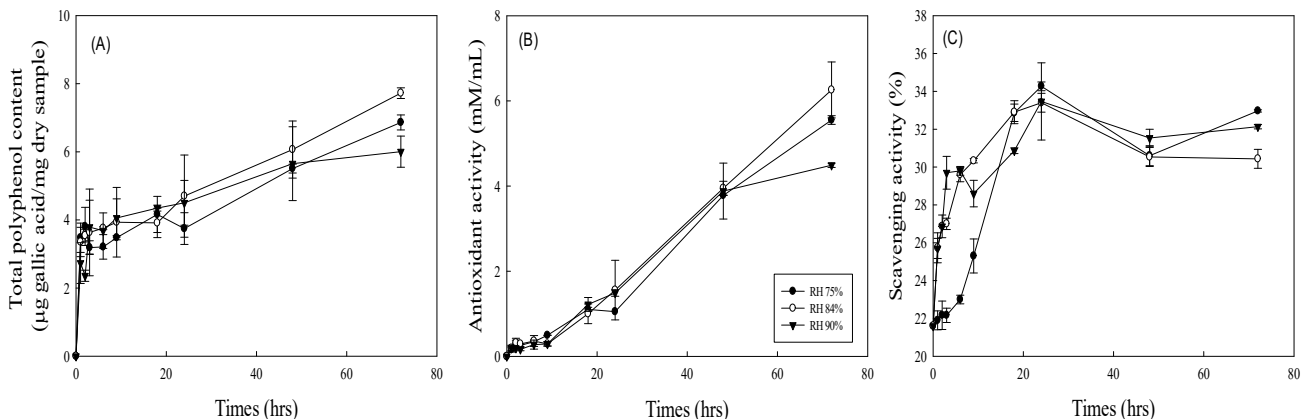


Fig. 1. Effect of garlic powder extracts with aging conditions on antioxidant actives. The total polyphenol content (A), antioxidant activity (B), and DPPH-scavenging activity (C) of the aged garlic powder at 80°C depending on relative humidity 75, 84, and 90%.

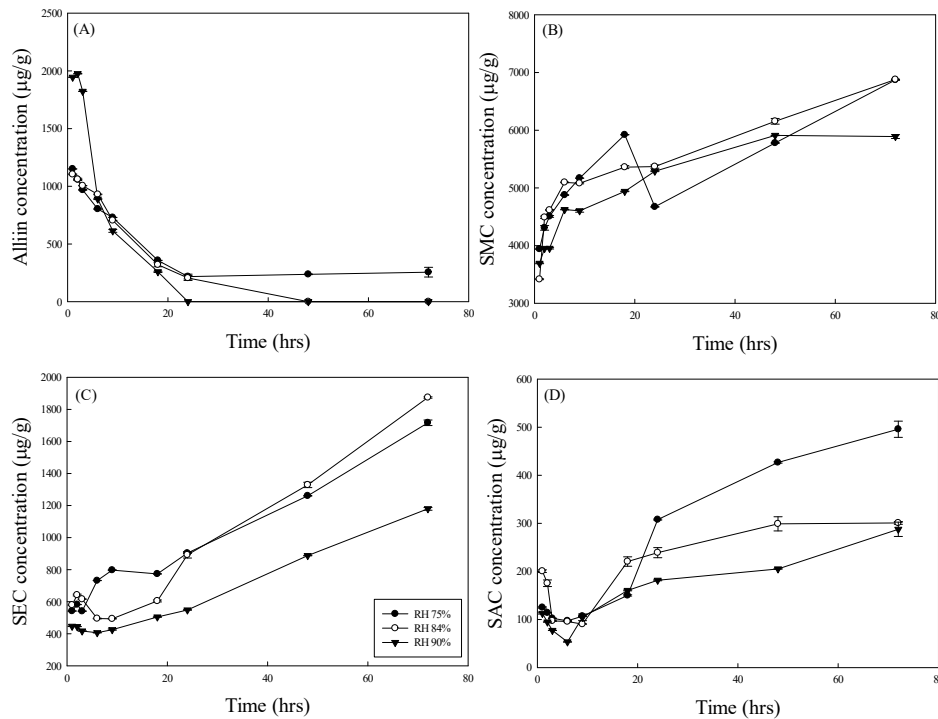


Fig. 2. Effect of garlic powder extracts with aging conditions on functional compounds contents. Alliin (A), S-methyl-cysteine (B), S-ethyl-cysteine (C), and S-allyl-cysteine (D) concentrations of the aged garlic powder at 80 °C depending on relative humidity 75, 84, and 90%.

Table 1. Aging and fermentation effect on antioxidant activities and functional compounds contents in garlic extracts

Antioxidant abilities	RG	BG	LFBG	MFBG
Total polyphenol contents (µg/mg)	4.06±0.65 ^{c1)}	10.19±0.51 ^b	10.60±0.24 ^b	15.67±0.47 ^a
Antioxidant activity (mM/mL)	0.70±0.15 ^c	15.16±0.56 ^a	8.33±1.14 ^b	10.84±0.64 ^b
Radical scavenging activity (%)	24.01±0.95 ^b	24.80±0.72 ^b	23.93±0.94 ^b	32.88±0.71 ^a

Raw garlic (RG), black garlic (BG), *Lactobacillus* fermented black garlic (LFBG), *Monascus* fermented black garlic (MFBG).

¹⁾ Means with different superscripts within the same a row (^{a-c}) was significantly different ($p < 0.05$).

을 보고하였다. 또한, 숙성 후 발효시의 발효종 종류에 따른 항산화력의 차이가 나타났다. 유산균을 이용하여 발효한 경우에는 숙성 공정만을 거친 흑마늘 시료의 폴리페놀 함량과의 유의적인 차이가 없었지만, 홍국균을 이용한 경우에는 항산화력이 크게 증가하는 것으로 나타났다. 또한, 유산균 및 홍국균으로 발효시킨 발효 흑마늘의 환원력은 8.33 mM/mL 및 10.84 mM/mL로 흑마늘(15.15 mM/mL)에 비해서는 낮았으나, 생마늘(0.70 mM/mL)에 비해 유의적으로 활성이 높았다. DPPH 라디칼 소거능 또한 홍국균으로 발효시킨 흑마늘에서 가장 높은 값을 나타내었다. 마늘과 같이 황화합물의 함유량이 높은 식품 시료는 숙성 후 발효에 있어서 홍국균이 그 기능성 유효 성분 제조에 유리함을 보여준다. Table 2에서 보는 바와 같이, 숙성과 발효를 통해 여러 가지 수용성

황화합물의 함량이 정량적으로 증가함을 알 수 있다. 흑마늘의 S-methyl-cysteine(SMC)과 S-allyl-cysteine(SAC)의 함량은 생마늘에 비하여 각각 1.54 배, 4.69 배 증가하였으며, 홍국균으로 발효시킨 흑마늘의 경우에는 SMC, SAC 및 S-ethyl-cysteine(SEC)이 21.89 mg/g, 3.68 mg/g 및 1.27 mg/g으로 가장 높게 나타났다. Jung 등(2013)의 연구 결과에서도 *L. plantarum*을 이용하여 마늘을 발효시켰을 때, SAC 함량이 약 4.6 배 증가함을 확인하였다.

3. 체중 변화 및 조직 중량

비만 시험군의 실험 결과, 일반 사료를 섭취한 정상군(positive control)과 고지방 사료에 의해 비만이 유도된 비만 시험군의 음성 대조군(OB-Negative control group), 생마늘

Table 2. Effects of aging and fermentation on functional compounds contents in garlic extracts

Samples	Concentration ($\mu\text{g/g}$)			
	Alliin	SMC	SEC	SAC
Raw garlic (RG)	753.96 \pm 16.88 ^{b1)}	8,456.33 \pm 226.15 ^d	735.39 \pm 149.66 ^c	122.69 \pm 10.01 ^d
Black garlic (BG)	411.10 \pm 29.17 ^d	13,092.78 \pm 61.53 ^b	767.82 \pm 30.54 ^c	575.95 \pm 14.23 ^b
<i>Lactobacillus</i> fermented black garlic (LFBG)	517.39 \pm 34.48 ^c	12,345.59 \pm 54.43 ^c	928.66 \pm 4.12 ^b	196.56 \pm 2.08 ^c
<i>Monascus</i> fermented black garlic (MFBG)	1,061.02 \pm 140.05 ^a	21,889.39 \pm 388.33 ^a	3,682.98 \pm 268.11 ^a	1,265.49 \pm 182.71 ^a

S-methyl-cysteine (SMC), S-ethyl-cysteine (SEC), S-allyl-L-cysteine (SAC).

¹⁾ Means with different superscripts within the same a column (^{a-d}) was significantly different ($p<0.05$).

(OB-RG), 흑마늘(OB-BG), 유산균 발효 흑마늘(OB-LFBG) 및 홍국균 발효 흑마늘(OB-MFBG) 추출물 5 mL/kg(투여용량 1 회당 500 mg/kg)을 투여한 후 체중 변화 및 장기 무게를 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 비만 음성 대조군(OB-Negative control group)과 비교하여 흑마늘군(OB-BG, OB-LFBG, OB-MFBG)은 통계적으로 유의하게 체중이 증가하였다($p<0.05$). 체중 증가량은 고지방 식이로 비만을 유도한 음성 대조군(OB-Negative control group)에서 29.37 g으로 정상군(positive control group)에 비해 약 9.47% 증가하여 유의적으로 높았다. 또한, 흑마늘 급이군(OB-BG)과 유산균 발효 흑마늘 급이군(OB-LFBG)이 각각 34.01 g 및 34.33 g으로 생마늘 급이군(OB-RG)보다 높게 나타났다. 장기 중량을 측정 한 결과, 전체 체 중에서 간이 차지하는 비율은 음성대조군(OB-Negative control

group)이 3.73%로 가장 높게 나타났으며, 생마늘 급이군(OB-RG)이 대조군보다 유의적인 차이로 감소되었고, 흑마늘(OB-BG)과 유산균 발효 흑마늘(OB-LFBG) 급이군에서 3.02% 및 3.00%로 가장 낮게 나타남으로써 모든 시험군들에서 통계적으로 유의하게 감소되었다. 그러나 심장, 신장, 비장, 부 고환 지방 조직의 무게에는 변화가 없었다. 이는 간 이외의 장기 조직에서는 실험군간에 유의차가 없었으며, 이는 발효 시킨 흑마늘 추출물의 독성 위험이 없다는 것을 의미하며, Kang 등(2008)과 Kim 등(2010a)의 보고와도 일치하는 경향이 었다. 고지방 식이의 급이는 간 조직에 유입된 콜레스테롤의 정상적인 배출을 억제시켜 간 조직 내에 축적됨에 따라 지방 간 및 간 비대를 일으켜 중량이 증가되는 것으로 보고되어 있는데(Rhee & Park 1984), 본 연구의 흑마늘 및 유산균 발효

Table 3. Change in body weight (g) and tissue relative weight (% of final body weight)

Groups	Positive control	Negative control	RG	BG	LFBG	MFBG
Obesity group						
Initial body weight (g)	22.36 \pm 0.68 ^{a1)}	22.38 \pm 0.65 ^a	22.49 \pm 0.63 ^a	22.50 \pm 0.63 ^a	22.56 \pm 0.65 ^a	22.55 \pm 0.65 ^a
Final body weight (g)	26.83 \pm 0.58 ^b	29.37 \pm 1.13 ^{ab}	31.17 \pm 2.53 ^{ab}	34.01 \pm 1.72 ^a	34.33 \pm 1.46 ^a	31.98 \pm 1.95 ^{ab}
Heart (%)	0.46 \pm 0.04 ^a	0.40 \pm 0.02 ^a	0.34 \pm 0.02 ^a	0.30 \pm 0.01 ^a	0.30 \pm 0.02 ^a	0.35 \pm 0.03 ^a
Liver (%)	3.76 \pm 0.12 ^a	3.73 \pm 0.06 ^a	3.17 \pm 0.04 ^b	3.02 \pm 0.04 ^c	3.00 \pm 0.04 ^c	3.14 \pm 0.08 ^b
Kidney (%)	0.51 \pm 0.03 ^a	0.49 \pm 0.03 ^a	0.43 \pm 0.02 ^a	0.42 \pm 0.02 ^a	0.47 \pm 0.03 ^a	0.47 \pm 0.03 ^a
Spleen (%)	0.23 \pm 0.02 ^a	0.21 \pm 0.02 ^a	0.18 \pm 0.01 ^a	0.16 \pm 0.01 ^a	0.17 \pm 0.01 ^a	0.20 \pm 0.02 ^a
Epididymis fatty tissue (%)	1.70 \pm 0.30 ^b	4.05 \pm 0.44 ^a	4.47 \pm 0.52 ^a	5.35 \pm 0.55 ^a	5.26 \pm 0.28 ^a	4.22 \pm 0.90 ^a
Non-alcoholic fatty liver group						
Initial body weight (g)	22.02 \pm 0.47 ^a	22.54 \pm 0.64 ^a	22.78 \pm 0.77 ^a	22.80 \pm 0.80 ^a	22.81 \pm 0.82 ^a	22.98 \pm 0.98 ^a
Final body weight (g)	23.68 \pm 0.62 ^a	15.25 \pm 0.45 ^b	15.98 \pm 0.62 ^b	15.78 \pm 0.62 ^b	15.69 \pm 0.50 ^b	15.67 \pm 0.77 ^b
Heart (%)	0.48 \pm 0.04 ^a	0.46 \pm 0.05 ^a	0.40 \pm 0.03 ^a	0.38 \pm 0.01 ^a	0.42 \pm 0.02 ^a	0.42 \pm 0.01 ^a
Liver (%)	3.92 \pm 0.29 ^a	3.47 \pm 0.20 ^a	3.61 \pm 0.09 ^a	3.37 \pm 0.12 ^a	3.55 \pm 0.08 ^a	3.62 \pm 0.16 ^a
Kidney (%)	0.64 \pm 0.03 ^a	0.47 \pm 0.03 ^b	0.50 \pm 0.03 ^b	0.50 \pm 0.02 ^b	0.48 \pm 0.02 ^b	0.51 \pm 0.04 ^b
Spleen (%)	0.24 \pm 0.06 ^a	0.22 \pm 0.03 ^a	0.20 \pm 0.00 ^a	0.22 \pm 0.01 ^a	0.20 \pm 0.02 ^a	0.15 \pm 0.03 ^a
Epididymis fatty tissue (%)	1.46 \pm 0.16 ^b	0.37 \pm 0.05 ^a	0.64 \pm 0.19 ^a	0.26 \pm 0.06 ^a	0.40 \pm 0.09 ^a	0.36 \pm 0.08 ^a

Raw garlic (RG), black garlic (BG), *Lactobacillus* fermented black garlic (LFBG), *Monascus* fermented black garlic (MFBG).

¹⁾ Means with different superscripts within the same a row (^{a-c}) was significantly different ($p<0.05$).

흑마늘 추출물은 간 조직 내의 지방 축적 억제에 효과가 있는 것으로 사료된다. 또한, 비알코올성 지방간 시험군의 실험 결과에서도 음성 대조군(HS-Negative control group)과 비교하여 모든 시험군들(HS-RG, BG, LFBG, 및 MFBG)의 체중 변화 및 장기 중량에는 유의적인 차가 없는 것으로 보아, 체중 개선의 효과는 없는 것으로 나타났다.

4. 혈중 ALT 및 AST 변화

간 손상의 임상적 지표로 사용되고 있는 ALT와 AST 활성 측정을 통하여 간 기능 효능을 검증한 결과를 Table 4에 나타내었다. 혈청 ALT 및 AST 활성은 간 손상으로 인한 간세포의 괴사와 간 조직의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타내는 것으로 간 손상 지표의 중요한 단서가 된다(Lieber CS 1985; Whitfield & Martin 1985). 비만 시험군에서 ALT 및 AST 활성은 음성 대조군(OB-Negative control group)에서 각각 37.2 U/L 및 81.0 U/L로 정상군(positive control group)에 비해 유의적으로 상승하였으며, ALT 활성은 흑마늘(OB-BG), 유산균 발효흑마늘(OB-LFBG) 및 홍국균 발효흑마늘(OB-MFBG) 투여군에서 22.06 U/L, 24.34 U/L 및 29.55 U/L로 유의적으로 활성이 낮아졌지만 시료에 따른 유의적인 차이는 없었다. AST 활성은 홍국균 발효 흑마늘(OB-MFBG)군에서 59.31 U/L로 가장 낮은 값을 나타냈으며, 그 외의 시험군에서도 유의적인 차이는 없었으나 감소하는 경향을 보였다. 이는 시료 중의 페놀성 화합물이나 항산화 활성과 연관성이 있기 때문으로 생각된다. 간염, 간 괴사 및 간경변과 같은 간에서 ALT 활성이 증가하고, AST 활성은 간염에 의해 증가하는 것으로 알려져 있으며, 이로 인하여 폐쇄성 황달 및 심근 경색이 발생한다(Sheo HJ 2000). 그러나, AST 및 ALT 활성은 마우스 식이에 첨가된 성분의 항산화 활성에 따라 감소하는 경향이 있다(Mun JH 2004). Lee 등(2010)의 연구에서도 흑마늘은 생마늘에 비하여

다량의 총 폴리페놀과 플라보노이드, 황화합물 및 갈변 물질 등을 함유하고 있어서 흑마늘과 유사하게 높은 항산화성을 나타내었다. 또한, 이로 인하여 고지방 식이로 유도된 비만 쥐의 혈청 AST 및 ALT 활성은 상기 언급된 성분의 물질과 관련이 있다고 보고하였다(Lee 등 2011). 비알코올성 지방간 시험군의 혈청분석 결과, 음성 대조군(HS-Negative control group) 대비 생마늘을 투여한 군(HS-RG)을 제외한 흑마늘군(HS-BG), 유산균 발효 흑마늘군(HS-LFBG), 홍국균 발효 흑마늘군(HS-MFBG)에서 각각 212.46 U/L, 231.54 U/L 및 222.57 U/L로 ALT 활성이 통계적으로 유의하게 증가하였으나, AST 수치에는 변화가 없는 것으로 나타났다.

5. 간 지질 함량

혈중의 지질농도는 심혈관계 질환인 동맥경화, 고혈압, 심장병, 고지혈증 등의 진단지표로도 사용되고 있다. 혈중 콜레스테롤 농도뿐만 아니라, 중성지질 농도를 감소시키고 HDL-콜레스테롤 농도를 증가시키려는 시도가 최근 천연 식물자원을 대상으로 다방면에서 활발하게 진행되고 있다(Jeon 등 2005). 비만과 지방간이 유도된 흰쥐들의 간 조직 지질함량은 Table 5와 같다. 비만 시험군의 측정 결과, 총 콜레스테롤 수치는 생마늘 투여군(OB-RG)에서 155.91 mg/dL로 가장 낮게 나타났고, 흑마늘 시료의 종류에 따른 유의적인 차이는 없었다. Kang 등(2008)의 결과에서도 고지방 식이에 생마늘, 증숙마늘 및 흑마늘 분말을 혼합 급여함으로써 혈청 콜레스테롤 저하에 유의적인 효과가 있었는데, 이러한 마늘의 체내 지질저하 효과는 마늘 중에 함유된 allicin이 acetyl CoA의 합성을 저해하기 때문이라고 보고되어 있다(Focke 등 1990). 중성지방의 함량은 흑마늘군(OB-BG)에서 108.01 mg/dL로 가장 낮았으며, 유산균(OB-LFBG)과 홍국균 발효 흑마늘(OB-MFBG)군에서 각각 133.45 및 129.37 mg/dL로 높게 나타났다. Noh 등(2011)은 식이로 제공된 흑마늘 추

Table 4. Effects of the aging and fermentation of garlic on activities of ALT and AST in obesity and non-alcoholic fatty liver model mouse

Groups	Obesity group		Non-alcoholic fatty liver group	
	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)
Positive control	24.6±3.40 ^b	67.1±12.60 ^b	20.8±5.90 ^d	54.8±15.32 ^c
Negative control	37.45±6.24 ^{ab}	81.02±3.66 ^{ab}	109.06±21.27 ^c	89.11±8.36 ^b
RG	24.50±3.79 ^b	72.46±16.08 ^b	176.75±5.55 ^b	125.15±4.19 ^a
BG	22.06±6.17 ^b	59.31±12.47 ^b	212.46±19.61 ^a	107.80±17.63 ^{ab}
LFBG	24.34±3.03 ^b	72.50±10.32 ^b	231.54±12.91 ^a	138.79±13.44 ^a
MFBG	29.55±3.40 ^b	84.37±6.50 ^{ab}	222.57±3.71 ^a	153.75±14.48 ^a

Raw garlic (RG), black garlic (BG), *Lactobacillus* fermented black garlic (LFBG), *Monascus* fermented black garlic (MFBG).

Table 5. Effects of garlic extraction on the serum lipid concentrations in obesity and non-alcoholic fatty liver model mouse

Groups	Obesity group			Non-alcoholic fatty liver group		
	Total cholesterol (mg/dL)	LDL/VLDL-cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)	Total cholesterol (mg/dL)	LDL/VLDL-cholesterol (mg/dL)	Triglyceride (mg/dL)
Positive control	112.0±6.40 ^c		81.0±2.44 ^b	111.6±2.09 ^a		74.8±8.30 ^a
Negative control	226.27±9.02 ^a	46.30±1.97 ^b	88.49±7.82 ^b	37.55±4.59 ^{bc}	10.58±2.17 ^b	40.43±2.34 ^{bc}
RG	155.91±10.57 ^b	52.26±5.77 ^{ab}	116.02±7.68 ^a	46.09±2.66 ^b	17.57±1.17 ^a	47.95±2.93 ^b
BG	210.09±18.79 ^a	65.20±5.96 ^a	108.01±8.56 ^{ab}	38.82±6.78 ^{bc}	17.64±2.16 ^a	50.75±2.54 ^b
LFBG	193.18±12.34 ^a	58.86±1.34 ^a	133.45±12.46 ^a	52.27±3.48 ^b	18.27±0.96 ^a	41.18±1.65 ^{bc}
MFBG	193.55±7.18 ^a	58.60±1.91 ^a	129.37±10.25 ^a	44.27±6.81 ^b	16.79±1.21 ^a	42.15±4.40 ^b

Raw garlic (RG), black garlic (BG), *Lactobacillus* fermented black garlic (LFBG), *Monascus* fermented black garlic (MFBG).

¹⁾ Means with different superscripts within the same a column (^{a-c}) was significantly different ($p < 0.05$).

출물이 쥐의 간 조직 내 총 콜레스테롤 및 중성지방 함량을 낮추었으며, 간 조직 내 항산화 효소 활성을 증가시켜 산화적 스트레스와 지질과산화물 함량의 증가를 억제함으로써 간조직 손상을 경감시켰다고 보고하였다. 이 때 투여한 흑마늘의 농도차에 의한 간조직 손상의 감소량에 차이가 있었으며, Jeong 등(2014)의 실험에서도 유사한 결과가 보고되었다. 또한, Veteläinen 등(2007)의 연구결과에 보면, MCD 사료에 의해 비알코올성 지방간을 유도하게 되면, 간의 LDL/VLDL-콜레스테롤이 혈액으로 분비되지 못하고 간에 축적되어 LDL/VLDL-콜레스테롤 수치가 간 조직에는 높고, 혈액에서는 낮아진다고 하였다. 비알코올성 지방간 시험군의 경우, LDL/VLDL-콜레스테롤 수치가 음성대조군 대비 모든 시험군에서 높게 나타났으나 시료에 따른 유의적인 차이는 없었으며, 총 콜레스테롤 함량은 유산균 및 홍국균 발효 흑마늘군(HS-LFBG, MFBG)에서 음성대조군 대비 각각 39.38% 및 18.05% 증가하였다. 이 결과는 유산균 발효 흑마늘군(HS-LFBG)이 간에 축적된 LDL/VLDL-콜레스테롤과 총 콜레스테롤을 혈액으로 분비시킴으로써 혈청 내의 총 콜레스테롤과 LDL/VLDL-콜레스테롤의 수치가 증가한 것으로 사료된다. 따라서, 유산균 발효 흑마늘군(HS-LFBG)은 비알코올성 지방간의 지질 대사능에 대한 개선 효과가 있는 것으로 나타났다. Lee 등(2014)의 연구에서도 유산균 발효에 의해 비알코올성 지방간 억제 활성이 크게 증가하였으며, 유산균으로 발효시킨 마늘 추출물의 세포 내 지방 축적 감소 효과는 발효에 의해 증가된 SAC와 페놀성 화합물에 기인한다고 보고하였다.

요약 및 결론

본 연구에서는 마늘을 80°C의 75%, 84% 및 90% 상대습도 하에서 숙성시켜 흑마늘을 제조하고, 이들을 유산균 및 홍국

균으로 발효시켜 발효 흑마늘 추출액을 제조하였다. 이들의 항산화 활성 및 황화합물의 함량을 측정하고, 고지방식으로 유도된 비만 흰쥐와 MCD 식이로 비알코올성 지방간이 유도된 쥐에게 흑마늘 추출액을 식이 중에 혼합급이하여 체내 지질함량 및 간 기능 개선 효과를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량과 환원력 및 라디칼 소거능은 상대습도 75% 또는 84% 조건에서 48시간 이상 숙성시킨 흑마늘에서 가장 긍정적인 결과를 나타냈다. 동일 조건에서 수용성 황화합물인 S-ethyl cysteine (SEC)의 함량이 초기 함량(5.66 µg/g)에 비하여 숙성 후에 1,260 µg/g으로 증가하였다. 숙성 후 홍국균으로 발효시킨 흑마늘 추출액의 폴리페놀 함량 및 DPPH 라디칼 소거능은 생마늘 추출액에 비하여 각각 약 4배 및 1.3배 증가하였다. 숙성과 발효를 통해 여러 가지 수용성 황화합물(Alliin, SAC, SEC 및 SMC)의 함량이 정량적으로 증가함을 알 수 있다. 유산균 및 홍국균으로 발효시킨 흑마늘 추출액은 비만으로 인해 증가한 혈중 ALT 및 AST를 감소시켰으며, 비만으로 인하여 감소한 중성지방(triglyceride)을 증가시키고, 총 콜레스테롤의 함량은 낮추었다. 또한, 지방간으로 인해 간에 축적되어 있던 LDL/VLDL-콜레스테롤과 총 콜레스테롤이 유산균으로 발효시킨 흑마늘 추출물의 섭취에 의하여 다시 혈액으로 분비되는 것을 촉진시키는 것으로 나타났다. 따라서, 생마늘에 비하여 높은 항산화능과 다량의 유효물질을 함유한 발효 흑마늘 추출물이 비만과 비알코올성 지방간으로 인한 간 기능 저하 및 지질대사 이상의 예방, 개선 및 치료능을 갖는 것으로 사료된다.

References

Ahn HY, Park KR, Cho YS. 2014. Effect of fermented *Angelica gigas* Nakai on lipid metabolism in orotic acid model rats.

- J Life Sci* 24:743-749
- Anstee QM, Targher G, Day CP. 2013. Progression of NAFLD to diabetes mellitus, cardiovascular disease or cirrhosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10:330-344
- AOAC. 1955. Official Method of Analysis. 8th ed. p.144. Association of Official Agricultural Chemists
- Argo CK, Caldwell SH. 2009. Epidemiology and natural history of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 13:511-531
- Benzie IF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal Biochem* 239:70-76
- Chae HJ, Park DI, Lee SC, Oh CH, Oh NS, Kim DC, Won SI, In MJ. 2011. Improvement of antioxidative activity by enzyme treatment and lactic acid bacteria cultivation in black garlic. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:660-664
- Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. 2012. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology* 142:1592-1609
- Chun HJ, Paik JE. 1997. Effect of heat treatment of garlic added diet on the blood of spontaneously hypertension rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26:103-108
- Focke M, Feld A, Lichtenthaler HK. 1990. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acetyl-CoA synthetase. *FEBS Lett* 261:106-108
- Gwak SR, Shen L, Park SJ, Kwon YM, Joo JC. 2019. Clinical study on nonalcoholic fatty liver disease related factors: Tumor marker, heart rate variability, sasang constitution. *J Sasang Constitut Med* 31:22-30
- Horie T, Awazu S, Itakura Y, Fuwa T. 1992. Identified diallyl polysulfides from an aged garlic extract which protects the membranes from lipid peroxidation. *Planta Med* 58:468-469
- Jeon BS, Park JW, Kim BK, Kim HK, Jung TS, Hahm JR, Kim DR, Cho YS, Cha JY. 2005. Fermented mushroom milk-supplemented dietary fibre prevents the onset of obesity and hypertriglyceridaemia in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF) rats. *Diabetes Obes Metab* 7:709-715
- Jeong EH, Jun DW, Cho YK, Choe YG, Ryu S, Lee SM, Jang EC. 2013. Regional prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in Seoul and Gyeonggi-do, Korea. *Clin Mol Hepatol* 19:266-272
- Jeong H, Kim YS, Park PJ, Choi UK, Jeong JH, Lee US, Choi WS. 2014. Development of functional mixed drink using extract of *Hericium erinacium* cultivated with *Artemisia capillaris* and black garlic. *Korean J Food Nutr* 27:751-759
- Jung EB, Choi JH, Yu HJ, Kim KH, Lee SK, Hwang YI, Lee SH. 2013. Organosulfur compounds in fermented garlic extracts and the effects on alcohol induced cytotoxicity in CYP2E1-transfected HepG2 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:342-347
- Kang MJ, Lee SJ, Shin JH, Kang SK, Kim JG, Sung NJ. 2008. Effect of garlic with different processing on lipid metabolism in 1% cholesterol fed rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:162-169
- Kim HJ, Han CH, Kim NY, Lee EK, Lee KN, Cho HE, Choi YH, Chong MS. 2010a. Effect of garlic extracts with extraction conditions on antioxidant and anticancer activity. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 24:111-117
- Kim RJ, Lee SJ, Kim MJ, Hwang CR, Kang JR, Jung WJ, Sung NJ. 2010b. Effects of fresh, red and black garlic powder on lipid metabolism of obese rats induced by high fat diet. *J Agric Life Sci* 44:159-170
- Kim YD, Seo JS, Kim KJ, Kim KM, Hur CK, Cho IK. 2005. Component analysis by different heat treatments of garlic (*Allium saivum* L.). *Korean J Food Preserv* 12:161-165
- Kwon OC, Woo KS, Kim TM, Kim DJ, Hong JT, Heong HS. 2006. Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum* L.) on the high temperature and pressure treatment. *Korean J Food Sci Technol* 38:331-336
- Lee HS, Lim WC, Choi JH, Yu HJ, Kim KH, Lee SH, Cho HY. 2014. Ameliorating effects of lactic acid-fermented garlic extracts on oleic acid-induced hepatic steatosis. *Korean J Food Sci Technol* 46:762-768
- Lee J, Seong Y, Jeong B, Yoon S, Lee I, Jeong Y. 2009. Quality characteristics of sponge cake with black garlic powder added. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38:1222-1228
- Lee SJ, Kim RJ, Ryu JH, Shin JH, Kang MJ, Kim IS, Sung NJ. 2011. Effects of the red garlic extract for anti-obesity and hypolipidemic in obese rats induced high fat diet. *J Life Sci* 21:211-220
- Lee SJ, Shin JH, Kang MJ, Jung WJ, Ryu JH, Kim RJ, Sung NJ. 2010. Antioxidants activity of aged red garlic. *J Life Sci* 20:775-781
- Lieber CS. 1985. Alcohol and the liver: metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. *Acta Med*

Scand Suppl 703:11-55

- Mun JH. 2004. The risk factors of metabolic syndrome and the association between metabolic syndrome and γ -GPT. Ph.D. Thesis, Chungang Univ. Seoul. Korea
- Noh BK, Lee JK, Won YD, Park HJ, Lee SJ. 2011. The antioxidative effect of black garlic extract on paraquat-induced oxidative stress in ICR mice. *Korean J Food Sci Technol* 43:760-765
- Park CH, Kim KH, Kim NY, Kim SH, Yook HS. 2014. Antioxidative capacity and quality characteristics of *Yanggaeng* with fermented aged black giant garlic (*Allium ampeloprasum* L. var. *ampeloprasum* Auct.) paste. *Korean J Food Nutr* 27:1014-1021
- Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, Sung IK, Sohn CI, Keum DK, Kim BI. 2006. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol* 21:138-143
- Rhee SJ, Park HK. 1984. Changes of lipid content and histochemical observation in liver of rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 17:113-125
- Shang A, Cao SY, Xu XY, Gan RY, Tang GY, Corke H, Mavumengwana V, Li HB. 2019. Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). *Foods* 8:246-277
- Sheo HJ. 2000. Toxic effects of the megadose garlic juice in the rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29:485-492
- Shin JH, Lee HG, Kang MJ, Lee SJ, Sung NJ. 2010. Antioxidant activity of solvent fraction from black garlic. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39:933-940
- Tsukahara M, Shinzato N, Tamaki Y, Namihira T, Matsui T. 2009. Red yeast rice fermentation by selected *Monascus* sp. with deep-red color, lovastatin production but no citrinin, and effect of temperature-shift cultivation on lovastatin production. *Appl Biochem Biotechnol* 158:476-482
- Veteläinen R, van Vliet A, van Gulik TM. 2007. Essential pathogenic and metabolic differences in steatosis induced by choline or methionine-choline deficient diets in a rat model. *J Gastroenterol Hepatol* 22:1526-1533
- Wan X, Polyakova Y, Row KH. 2007. Determination of diallyl disulfide in garlic by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Anal Sci Technol* 20:442-447
- Whitfield JB, Martin NG. 1985. Individual differences in plasma ALT, AST and GGT: Contributions of genetic and environmental factors, including alcohol consumption. *Enzyme* 33: 61-69
- Zhang Y, Zhang H, Wang L, Guo X, Qi X, Qian H. 2011. Influence of the degree of hydrolysis (DH) on antioxidant properties and radical-scavenging activities of peanut peptides prepared from fermented peanut meal. *Eur Food Res Technol* 232:941-950

Received 30 January, 2020

Revised 07 February, 2020

Accepted 13 February, 2020